南美白对虾肉玻璃化转变温度测定的影响因素

石启龙，林雯雯，赵亚

（山东理工大学农业工程与食品科学学院，山东淄博 255049）

摘要：为准确测定南美白对虾肉的玻璃化转变温度（T_g），对影响其 T_g 测定的因素（包括差示扫描量热仪（DSC）测定过程中程序扫描次数、退火温度和时间、加热速率、样品湿基含水率）进行了系统研究。结果表明，含非冻结水的虾肉宜采用单扫描程序。含冻结水的虾肉冰晶体出现始、末对应的温度范围为-22 ℃~-53 ℃，在此温度范围内退火 30 min，焓变 ΔH 先降低后增加，当 ΔH 达到最小值 171.1 J/g 时，与之对应的温度为-35 ℃，即为虾肉适宜的退火温度。虾肉 T_g 随退火时间的延长而降低，且在超过 30 min 后逐渐趋于稳定，因此适宜退火时间为 30 min。虾肉 T_g 随升温速率的降低而降低，并在速率低于 5 ℃/min 后逐渐趋于恒定，适宜升温速率范围 5 ℃/min。T_g 随虾肉含水率的增加而降低，含水率＜25.88%时，T_g 降低趋势明显；而含水率＞25.88%时，T_g 降低幅度很小并逐渐趋于恒定。本研究结果可为南美白对虾肉 DSC 扫描程序的确定提供理论依据。

关键词：南美白对虾；差示扫描量热仪；退火处理；玻璃化转变温度

文章篇号：1673-9078(2014)11-48-52 DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2014.11.010

Factors Influencing the Determination of Glass Transition Temperature of *Penaeus vannamei* Meat

SHI Qi-long, LIN Wen-wen, ZHAO Ya

(School of Agricultural Engineering and Food Science, Shandong University of Technology, Zibo 255049, China)

Abstract: In order to accurately determine the glass transition temperature (T_g) of *Penaeus vannamei* meat, the factors affecting the T_g determination, including the scanning mode type (single or double scan), heating rate, annealing temperature and time, and sample wet-basis moisture content during the measurement as determined by differential scanning calorimetry (DSC), were systemically investigated. The experimental results showed that single scan mode was appropriate for the DSC analysis of shrimp samples containing nonfreezable water. For the samples containing freezable water, the corresponding beginning and end temperatures for ice crystallization were between -22 ℃ and -53 ℃. When the annealing treatment was conducted in this temperature range for 30 min, the enthalpy change (ΔH) first decreased and then increased. When the ΔH value achieved the minimum value of 171.7 J/g, the corresponding temperature was -35 ℃, i.e., the suitable annealing temperature. The T_g values of the shrimp meat decreased with increasing annealing time and were gradually stabilized after 30 min. Therefore, the optimum annealing time was 30 min. The T_g values decreased with decreasing heating rate and were gradually stabilized when the heating rate was lower than 5 ℃/min. Therefore, the optimum heating rate was 5 ℃/min. The T_g values decreased with increasing moisture content in the shrimp meat. T_g had an apparent decreasing trend when the moisture content was lower than 25.88%; the reduction of T_g was very small and it gradually stabilized when the moisture content was higher than 25.88%. The results could provide a theoretical basis for determining DSC scanning protocols for *Penaeus vannamei* meat.

Key words: *Penaeus vannamei*; differential scanning calorimetery; annealing treatment; glass transition temperature

食品加工及贮藏过程中，其质量特性受到物理变化（如收缩、溶质迁移、表面硬化、持水力和香气成分损失）和化学变化（如酶促及非酶褐变、脂质氧化、蛋白质变性）的影响[1]。这些与分子流动性相关的质量特性(如微生物生长、化学反应、货架期、质构)在很大程度上受到玻璃化转变温度的影响[2]。玻璃化转变是指非晶态聚合物(包括晶态聚合物的非晶态部分)由玻璃态到橡胶态或橡胶态到玻璃态的转变，其特征温度称为玻璃化转变温度(T_g)[3]。当食品体系温度 $T<T_g$ 时，体系处于玻璃态，分子流动性显著降低，体系黏度较高，稳定性最强；而当 $T>T_g$ 时，体系则处于橡胶态，分子流动性增强，脂质氧化、酶促褐变、蛋白质变性等受

收稿日期：2014-05-23

项目名称：国家自然科学基金资助项目（31171708）；山东理工大学青年教师发展支持计划资助项目（110033）

作者简介：石启龙（1974-），男，博士，副教授，主要从事果蔬、水产品加工与贮藏研究

分子扩散运动控制的变化反应速率显著增加[3~5]。食品加工及贮藏过程中，其品质变化在很大程度上取决于体系温度 T 与 T_g 的差值，其值越大，品质劣化速度越快、降低程度越显著[1, 6~7]。例如，干燥过程中的产品的收缩[1, 8]、色泽变化[9]、营养素降解[10~11]、冷冻或冻藏期间品质变化[7, 12~13]均与 T_g 密切相关。因此，准确测定 T_g 对于评估食品加工及贮藏稳定性尤为重要。目前，T_g 测定常采用差示扫描量热法(DSC)。食品是由多组分组成的复杂体系，对于高分子质量的聚合物如蛋白质、淀粉，其 T_g 较难准确测定[14]。此外，即使原料相同，其 T_g 值也可能存在较大差异[12]。研究表明，DSC 测定过程中，影响样品 T_g 测定的因素较多，如加热速率[15~17]、退火温度和时间[17~18]、样品含水率等[7, 18~19]。目前，系统研究 T_g 影响因素的报道较为匮乏，仅有枣[16]、鸡肉和羊肉[17]，而以蛋白质为主要成分的水产品尤其是南美白对虾肉报道较少。崔宏博采用 LF-NMR 和电镜分析了冻干虾仁贮藏期间水分状态和肌原纤维结构变化，研究表明，虾肉贮藏过程中，水分由中间水向自由水转变是导致虾肉复水力下降的关键因素[20]，但未对虾肉的 T_g 进行分析，因此亟需系统、深入研究。本文研究南美白对虾肉 DSC 测定过程中程序扫描次数、退火温度和时间、加热速率、虾肉湿基含水率等因素对 T_g 的影响，优化南美白对虾肉 DSC 扫描程序。研究结果不仅为南美白对虾肉 T_g 测定提供理论依据，也可为其他食品原料 T_g 测定准则提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

南美白对虾购于淄博水产品批发市场，虾体长(13.61±0.88)cm，质量(15.55±1.20)g。虾肉主要成分：湿基含水率(76.45±0.21)%、蛋白质(18.4±0.3)%、脂肪(1.55±0.16)%、灰分(2.38±0.15)%。

氯化锂、醋酸钾、六水氯化镁、碳酸钾、六水硝酸镁、亚硝酸钠、氯化钠、硫酸铵、氯化钾、铬酸钾、二水氯化钡、五氧化二磷和麝香草酚等均为分析纯(AR)。

1.2 仪器与设备

SJ203A-250 型多功能搅拌机，浙江苏泊尔股份有限公司；SPX-250B-Z 型生化培养箱，上海博迅实业有限公司；DW-FL253 型低温冰箱，中科美菱低温科技有限责任公司；FD-1B-80 型冷冻干燥机，北京博医康实验仪器有限公司；DHG-9623A 型电热恒温鼓风干燥箱，上海精宏实验设备有限公司；Q100 型差示扫描量热仪（DSC），美国 TA 公司；PL203 型分析天平，梅特勒-托利多仪器有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 样品准备

鲜活南美白对虾置于碎冰休克，去除虾头和虾壳，所得虾仁用蒸馏水洗净，沥干水分后分成 2 组。一组用均质成肉糜，铝箔包裹置于-80 ℃冰箱中冷藏待用。另一组将虾仁置于-35 ℃冰箱中冷冻 24 h，冷冻后的样品在冷阱温度-80 ℃，真空度 1.9 Pa 的条件下冷冻干燥 72 h。干燥后的虾肉研磨成粉末。称取 1.000 g 冻干后的虾粉置于称量瓶中，然后放入盛有 11 种不同的饱和盐溶液的干燥器中，密封后置于(25±1) ℃恒温箱中平衡，定期测定样品质量，直至 2 次称量的质量变化＜0.003 g，平衡后的样品于 105 ℃干燥箱中干燥测定其含水率[21]。

1.3.2 试验方案

采用文献[5]方法对 DSC 进行温度和灵敏度校准。精确称量 5~10 mg 样品密封于坩埚内，放于 DSC 样品池中，以空坩埚作对照。载气为 50 mL/min 高纯氮气，采用液氮冷却样品。采用 DSC 软件分析热流密度曲线，得到初始（T_{gi}）、中点（T_{gm}）和终点（T_{ge}）的玻璃化转变温度，样品玻璃化转变温度取其中点值 T_{gm}。

1.3.2.1 含非冻结水样品

单扫描程序：10 ℃/min 降至-100 ℃，平衡 2 min 后以 10 ℃/min 升温至 80 ℃。双扫描程序：10 ℃/min 降至-100 ℃，平衡 2 min 后以 10 ℃/min 升温至 40 ℃；然后以 10 ℃/min 降至-100 ℃，平衡 2 min 后以 10 ℃/min 升温至 80 ℃。分析 2 次升温过程中 DSC 曲线，根据曲线拐点清晰度及 T_g 值间是否存在差异，进而确定含非冻结水虾肉 DSC 测定的适宜扫描次数。

1.3.2.2 含冻结水样品

（1）退火条件的确定

解冻后的虾肉糜以 10 ℃/min 降至-100 ℃，然后以 10 ℃/min 升温至 40 ℃。根据 DSC 图谱得到退火温度区间，在此区间内选取不同的退火温度，通过分析 DSC 曲线所得焓变 ΔH 确定最适退火温度。

在此退火温度下，研究不同退火时间（5、10、30、60、120 min）对 T_g 的影响，确定最适退火时间。

（2）升温速率对虾肉 T_g 的影响

在上述最适退火温度和时间下，控制加热速率分别为 2、3、4、5、10、15、20 ℃/min，分析热流密

度曲线，确定最适升温速率。

1.3.2.3 含水率对虾肉 T_g 的影响

恒温箱中平衡后的冻干虾肉样品测定含水率，不同含水率的样品进行 DSC 分析。对于含非冻结水的样品，采用 1.3.2.1 优化结果进行扫描；对于含冻结水样品，采用 1.3.2.2 优化结果进行扫描。

2 结果与分析

2.1 含非冻结水样品 T_g 的测定

含非冻结水虾肉样品分别采用单扫描和双扫描程序，探讨扫描程序对样品 T_g 影响。采用 Universal Aanlysis 软件分析升温过程中虾肉的 DSC 曲线，热流密度曲线的基线变化前后曲线切线与基线的交点所对应的温度为 T_g。含非冻结水虾肉样品典型的 DSC 曲线如图 1 所示。可以看出，单扫描和双扫描程序所得的热流密度曲线重复性良好，二者的 T_g 值无显著差异（p>0.05）。因此，DSC 扫描程序次数对含非冻结水虾肉的 T_g 无影响。南美白对虾肉宜采用单扫描程序。Hashimoto 等[22]研究表明，含非冻结水鲣鱼肉 DSC 单扫描时，存在热焓松弛峰，不利于 T_g 的确定；而双扫描和 3 次扫描可消除松弛峰，并能清晰检测 T_g。本研究与这一结果有所不同，这可能是由于原料组成成分差异所致。

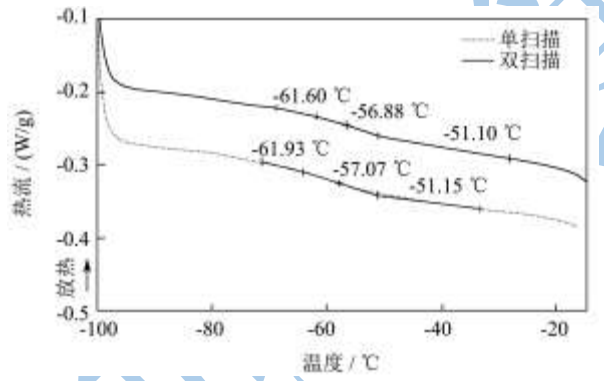


图 1 含非冻结水虾肉的 DSC 曲线（含水率 21.67%）

Fig.1 A typical DSC thermogram for *P. vannamei* meat containing non-freezable water (moisture content 21.67%)

2.2 含冻结水样品 T_g 的测定

对于含冻结水的虾肉样品，为了获得最大冷冻浓缩溶液时的玻璃化转变温度 T_g'和消除放热峰（如果出现），进而得到准确的玻璃化转变温度，需对样品进行退火处理[4, 6, 14]。

2.2.1 退火温度对 T_g 影响

称取解冻后的南美白对虾肉糜 15~20 mg，置于坩埚中密封，以 10 ℃/min 的速率由 40 ℃冷却至 -120 ℃，冻结曲线如图 2 所示。可以看出，冰晶形成引起的焓变所对应的初始温度为-22 ℃，冻结终了温度为-53 ℃。因此，选择样品退火温度范围为-22 ℃~-53 ℃，在此温度范围内退火 30 min，分析热流密度曲线，得到冰晶形成过程中的焓变 ΔH。试验结果见图 3 和表 1。随着退火温度由-25 ℃降低到-50 ℃，虾肉的 ΔH 呈现先降低后增加的趋势，T_g 值则随着退火温度的降低而逐渐降低。样品的 ΔH 在退火温度为-35 ℃时得到最小值，说明在此温度下样品能达到最大冷冻浓缩。样品在最大冷冻浓缩温度下长时间贮藏会导致自发的冰晶形成，从而使 ΔH 降低。因此，含冻结水的虾肉样品的退火温度宜选择-35 ℃。

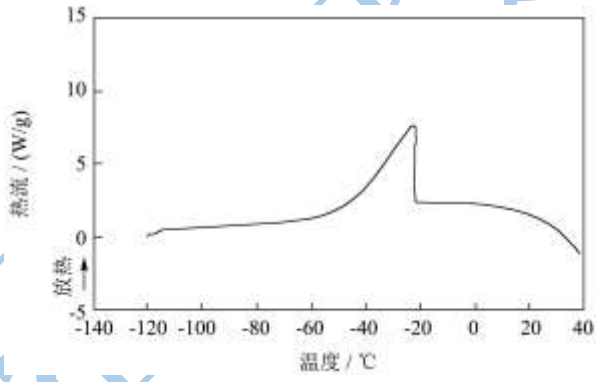


图 2 南美白对虾肉的冻结曲线

Fig.2 Freezing curve of *P. vannamei* meat

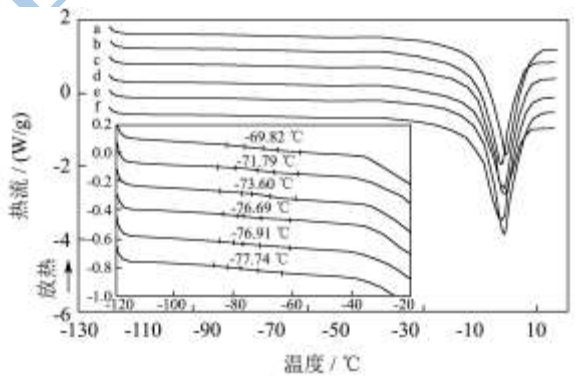


图 3 退火温度对虾肉 T_g 影响

Fig.3 Effect of annealing temperatureon T_g of *P. vannamei* meat

注：a: -25 ℃, b: -30 ℃, c: -35 ℃, d: -40 ℃, e: -45 ℃, f: -50 ℃。

目前，国内外常采用根据冻结终点温度 T_m'的方法确定退火温度（T_m'-1）℃[23~25]。为了比较 2 种退火温度选择方法，称取 10~20 mg 含冻结水的虾肉糜，置于坩埚中密封，以 10 ℃/min 的速度冷却至-100 ℃，在此温度下平衡 10 min，然后以 10 ℃/min 加热至 40 ℃。分析热流密度曲线（图略），得到冻结终了温度 T_m'，进而得到退火温度（T'_m-1）℃为-34 ℃。因此，对于南美白对虾肉而言，2 种确定退火温度的方法间无显著差异（p>0.05），均可用于含非冻结水虾肉

退火温度的确定。

表 1 不同退火温度下虾肉的 ΔH 和 T_g

Table 1 ΔH and T_g values of *P. vannamei* meat at various annealing temperatures

退火温度/℃	ΔH/(J/g)	T_{gm}/℃
-25	195.9±1.62	-69.72±0.66
-30	185.2±1.25	-71.34±0.81
-35	171.7±1.73	-73.42±0.83
-40	182.0±2.41	-76.50±0.95
-45	198.4±1.75	-77.15±0.78
-50	220.4±2.36	-79.70±1.22

2.2.2 退火时间对 T_g 影响

含冻结水的虾肉在温度-35 ℃分别退火 5、10、30、60、120 min，DSC 曲线如图 4 所示。可以看出，适宜的退火时间有利于 T_g 的测定。随着退火时间的延长，样品的 T_g 逐渐降低（p<0.05），当退火时间超过 30 min 时，T_g 趋于恒定。这与 Sunooj 等[17]的研究结果基本一致。因此，虾肉最适退火时间为 30 min。

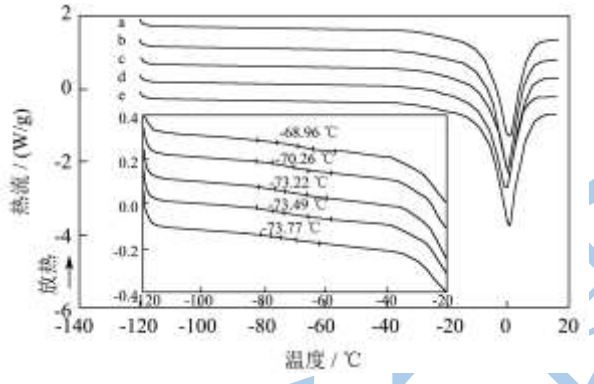


图 4 退火时间对虾肉 T_g 影响

Fig.4 Effect of annealing time (a 5 min, b 10 min, c 30 min, d 60 min, e 120 min) on T_g of *P. vannamei* meat

注：a：5 min，b：10 min，c：30 min，d：60 min，e：120 min。

2.2.3 加热速率对 T_g 影响

含冻结水的虾肉在温度-35 ℃下退火 30 min，以 10 ℃/min 速率降低至-100 ℃，在此温度下平衡 10 min，平衡后加热速率分别控制为 2、3、4、5、10、15、20 ℃/min，加热至 40 ℃。探讨不同加热速率对虾肉 T_g 影响，DSC 曲线如图 5 所示。南美白对虾肉 T_g 随着升温速率的降低而下降。加热速率为 10、15、20 ℃/min 时，虾肉 T_g 显著高于其他升温速率组（p<0.05），且加热速率 10、15 和 25 ℃/min 时，虾肉 T_g 亦存在显差异（p<0.05）。此外，加热速率为 2、3、4 和 5 ℃/min 时，各处理组间虾肉 T_g 无明显差异（p>0.05）。此外，随着加热速率的降低，热流密度曲线中，玻璃化转变区域更为清晰，T_g 也更容易分析。Rahman[16]、Sunooj 等[17]、刘宝林和华泽钊[26]分别研究了升温速率对枣、鸡肉、蔗糖溶液玻璃化转变温度的影响，得到了相同的结论。因此，南美白对虾肉 DSC 升温速率宜采用 5 ℃/min。

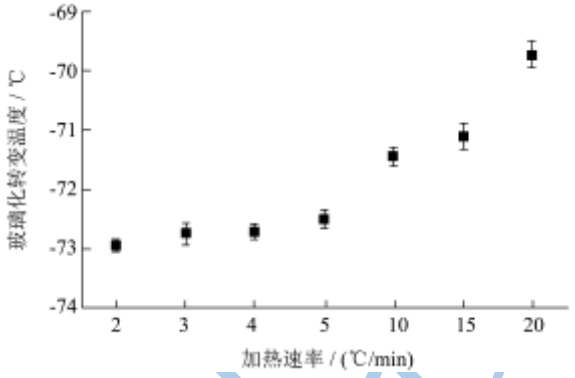


图 5 不同加热速率对虾肉 T_g 影响

Fig.5 Effect of heating rate on T_g of *P. vannamei* meat

2.2.4 虾肉含水率对 T_g 影响

由图 6 可知，T_g 随样品含水率的升高而降低。当含水率＜11.43%时，T_g 随着含水率的升高而急剧降低；含水率为 11.43%~25.88%时，T_g 随着含水率的升高呈近似线性降低趋势；而当含水率＞25.88%时，随着含水率的继续增加，T_g 降低幅度很小并趋于恒定。水分子可作为塑化剂可增强分子的流动性，进而提高食品体系的自由体积、降低粘度、部分反应的链段运动增强，导致体系的 T_g 降低[27]。而当含水率增加到一定程度时，样品在玻璃化转变过程中吸收的热量与冰溶解潜热相比可以忽略不计，因此 T_g 也趋于恒定[23]。这与 Rahman[16]、Telis[23]、Syamaladevi[24]和 Shi[25]等的研究结论基本一致。

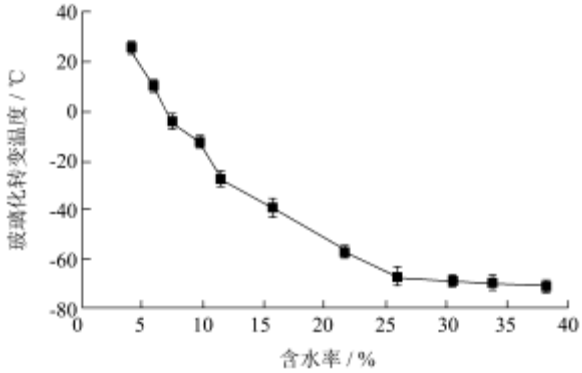


图 6 含水率对虾肉 T_g 影响

Fig.6 Effect of moisture content on T_g of *P. vannamei* meat

3 结论

3.1 含非冻结水的南美白对虾肉样品，其玻璃化转变温度测定宜采用单扫描程序。

3.2 含冻结水的南美白对虾肉样品，其 DSC 扫描程序宜采用：退火温度-35 ℃，退火时间 30 min，升温

速率 5 ℃/min。

3.3 T_g 随虾肉含水率的增加而降低。当含水率＜11.43%时，T_g 降低趋势明显；而当含水率＞25.88%时，T_g 降低幅度减缓并逐渐趋于恒定。

参考文献

[1] Kurozawa L E, Hubinger M D, Park K J. Glass transition phenomenon on shrinkage of papaya during convective drying [J]. Journal of Food Engineering, 2012, 108(1): 43-50

[2] Sablani S S, Bruno L, Kasapis S, et al. Thermal transitions of rice: Development of a state diagram [J]. Journal of Food Engineering, 2009, 90(1): 110-118

[3] 刘红英, 高瑞昌, 戚向阳. 食品化学[M]. 北京: 中国质检出版社, 2013

[4] Rahman M S. State diagram of foods: its potential use in food processing and product stability [J]. Trends in Food Science & Technology, 2006, 17(3): 129-141

[5] Shi Q L, Zhao Y, Chen H H, et al. Glass transition and state diagram for freeze-dried horse mackerel muscle [J]. Thermochimica Acta, 2009, 493(1-2): 55-60

[6] Rahman M S. Food stability determination by macro-micro region concept in the state diagram and by defining a critical temperature [J]. Journal of Food Engineering, 2010, 99(4): 402-416

[7] Rahman M S, Al-Belushi R M, Guizani N, et al. Fat oxidation in freeze-dried grouper during storage at different temperatures and moisture contents [J]. Food Chemistry, 2009, 114(4):1257-1264

[8] Katekawa ME, Silva MA. On the influence of glass transition on shrinkage in convective drying of fruits: A case study of banana drying [J]. Drying Technology, 2007, 25(10):1659-1666

[9] Liaotrakoon W, De Clercq N, Lewille B, et al. Physicochemical properties,glass transition state diagram and colour stability of pulp and peel of two dragon fruit varieties (*Hylocereus spp.*) as affected by freeze-drying [J]. International Food Research Journal, 2012, 19(2): 743-750

[10] Goula AM, Adamopoulos KG. Kinetic models of β-carotene degradation during air drying of carrots [J]. DryingTechnology, 2010, 28(6): 752-761

[11] Moraga G, Talens P, Moraga MJ, et al. Implication of water activity and glass transition on the mechanical and optical properties of freeze-dried apple and banana slices [J]. Journal of Food Engineering, 2011, 106(3): 212-219

[12] Aktas N, Akkose A. Glass transition of rainbow trout and its oxidation stability during storage [J]. International Journal of Food Properties, 2010, 13(4): 800-809

[13] Syamaladevi RM, Sablani SS, Tang JM, et al. Stability of anthocyanins in frozen and freeze-dried raspberries during long-term storage: In relation to glass transition [J]. Journal of Food Science, 2011, 76(6): E414-421

[14] Sablani SS, Syamaladevi RM, Swanson BG. A review of methods, data and applications of state diagrams of food systems [J]. Food Engineering Reviews, 2010, 2(3): 168-203

[15] Simatos D, Blond G, Roudaut G, et al. Influence of heating and cooling rates on the glass transition temperature and the fragility parameter of sorbitol and fructose as measured by DSC [J]. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 1996, 47(5), 1419-1436

[16] Rahman M S. State diagram of date flesh using differential scanning calorimetry (DSC) [J]. International Journal of Food Properties, 2004, 7(3): 407-428

[17] Sunooj KV, Radhakrishna K, George J, et al. Factors influencing the calorimetric determination of glass transition temperature in foods: A case study using chicken and mutton [J]. Journal of Food Engineering, 2009, 91(2): 347-352

[18] Ribeiro C, Zimeri JE, Yildiz E, et al. Estimation of effective diffusivities and glass transition temperature of polydextrose as a function of moisture content [J]. Carbohydrate Polymers, 2003, 51(3): 273-280

[19] Ohkuma C, Kawai K, Viriyarattanasak C, et al. Glass transition properties of frozen and freeze-dried surimi products: Effects of sugar and moisture on the glass transition temperature [J]. Food Hydrocolloids, 2008, 22(2): 255-262

[20] 崔宏博.两种南美白对虾产品工艺和贮藏稳定性的研究[D]. 青岛:中国海洋大学, 2012

[21] Association of official analytical chemists. official methods of analysis [M]. Arlington V A: Association of Official Analytical Chemists, 2000

[22] Hashimoto T, Suzuki T, Hugiwara T, et al. Studies on glass transition for several processed fish muscles and its protein fraction using differential scanning calorimetry [J]. Fisheries Science, 2004, 70(6): 1114-1152

[23] Telis VRN, Sobral PJA. Glass transition of freeze-dried and air dried tomato [J]. Food Research International, 2002, 35(5): 435-443

[24] Syamaladevi R M, Sablani S S, Tang J M, et al. State diagram and water sorption isotherm of raspberry (*Rubus idaeus*) [J]. Journal of Food Engineering, 2009, 91(3): 460-467

[25] Shi Q L, Wang X H, Zhao Y, et al. Glass transition and state

diagram for freeze-dried *Agaricus bisporus* [J]. Journal of Food Engineering, 2012, 111(4): 667-674

[26] 刘宝林,华泽钊.影响蔗糖溶液玻璃化转变温度的几个因素[J].华东工业大学学报,1997,19(3):31-35,44
Liu Baolin, Hua Zezhao. Several factors affecting the glass transtion temperature of sucrose solutions [J]. Journal of East China University of Technology, 1997, 19(3): 31-35, 44

[27] Slade L, Levine H. Beyond water activity: recent advances based on an alternate approach to the assessment of food quality and safety [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 1991, 30(2-3): 115-360

现代食品科技